

UNIVERSITE DE PARIS - FACULTE DE MEDECINE

ANNÉE 1960

N°
493

THESE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT) PAR

Nicole, Renée LELIEVRE - ARDAILLOU

née le 1er Juin 1932 à LA ROCHELLE (Charente-Maritime)

EXTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET IMMUNOLOGIQUE

DES MACROGLOBULINES SERIQUES



Président : René FAUVERT

UNIVERSITE DE PARIS - FACULTE DE MEDECINE

ANNÉE 1960

N°

THESE

POUR LE

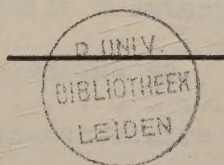
DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT) PAR

Nicole, Renée LELIEVRE - ARDAILLOU

née le 1er Juin 1932 à LA ROCHELLE (Charente-Maritime)

EXTERNE DES HOPITAUX DE PARIS



CONTRIBUTION A L'ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET IMMUNOLOGIQUE

DES MACROGLOBULINES SERIQUES



Président : René FAUVERT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. AUBIN (A.), BENARD (H.), BROCC (P.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CHABROL (E.), CHAMPY (C.), CHEVALLIER (P.), DEBRE (R.), DONZELOT (E.), GASTINEL (P.), GUILLAIN (G.), HALPHEN (E.), HARVIER (P.), HAZARD (R.), HEUYER (G.), LANTUEJOUL (P.), LAROCHE (G.), LAUBRY (C.), LEVY-SOLAL (E.), LIAN (C.), LOEPER (M.), MARION (G.), MATHIEU (P.), MOCQUOT (P.), MONDOR (H), MONOD (R.), MOREAU (R.), OLIVIER (E.), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DU-
TAILLIS, RICHEL (C.), STROHL (A.), TANON (L.).

DOYEN Léon BINET
Membre de l'Institut

ASSESEUR Jean VERNE.

I. - PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	GORDIER (G.)
" (Prof. à titre personnel)	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie	FASQUELLE (R.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.F.)
" " (Prof. à titre personnel)	SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'éducation physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
" " (Prof. à titre personnel)	BOURLIERE (F.)
Cancérologie médicale & Sociale	BERNARD (J.)
Clinique carcinologique chirurgicale (Inst. G. Roussy)	REDON (H.)
Clinique Cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M.)
(Beaujon)	SICARD (A.)
(Cochin)	QUENU (J.)
Cliniques chirurgicales { Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
{ Saint-Antoine	GOSSET (J.)
{ Salpêtrière	MOULONGUET (P.)
Clinique de chirurgie infantile & orthopédi- ques (Enfants-Malades)	FEVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)	MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	GAUDART-D'ALLAINES (F.de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laënnec)	MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J.)
Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)	FUNC K-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphiliti- ques (St-Louis)	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Cl. Bernard)	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker) . . .	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)	MARCHAL (G.)

Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	ALAJOUANINE (T.) LENEGRE (J.) SOULIE (P.) JUSTIN BESANCON (L.) BARIETY (M.) DREYFUS (G.) KOURILSKY (R.)
Cliniques médicales	(Boucicaut) (Broussais) (Cochin) (Hôtel-Dieu) (Pitié) (St-Antoine)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C.) GENNES (L.de)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.) DAVID (M.) LACOMME (M.) MERGER (R.) VARANGOT (J.) RENARD (G.) AUBRY (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	
Cliniques obstétricales	(Baudelocque) (Foch (Suresnes))
Clinique Obstétricale & gynécologique (Port-Royal)	
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	
Clinique de pédiatrie & de puériculture (St-Vincent-de-Paul)	LELONG (M.) MARIE (J.) BERNARD (E.) MICHAUX (L.) COSTE (F.) DECHAUME (M.) SENEQUE (J.) LEMAIRE (A.) FEY (B.) GIROUD (A.)
Clinique de pédiatrie Sociale (Enfants-Malades)	
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laënnec)	
Clinique psychiatrique infantile (Salpêtrière)	
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	
Clinique Stomatologique (Pitié)	
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	
Clinique thérapeutique médicale (St-Antoine)	
Clinique urologique (Cochin)	
Embryologie	
Histoire de la médecine & de la chirurgie (Lariboisière)	SEZE (S.de) VERNE (J.)
Histologie	
Hygiène & clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R.) JOANNON (P.) DEPARIS (M.) DESCILLE (H.) PIEDELIEVRE (R.) GALLIARD (H.) COUVELAIRE (R.) LAVIER (G.) MERKLEN (F.-P.) MILLIEZ (P.) GARCIN (R.) CHEYMOL (J.) LEVY (Mlle J.) BINET (L.) BARGETON (D.) DOGNON (A.) DJOURNO (A.) DESGREZ (H.) LEGER (L.) BROUET (G.)
Hygiène & Médecine préventive	
" " (Prof. à titre personnel)	
Médecine du Travail	
Médecine légale	
Parasitologie	
Pathologie chirurgicale	
Pathologie exotique	
Pathologie expérimentale et comparée	
Pathologie médicale	
Pathologie et thérapeutique générales	
Pharmacologie	
" (Prof. à titre personnel)	
Physiologie	
" (Prof. à titre personnel)	
Physique médicale	
" " (Prof. à titre personnel)	
Radiologie médicale	
Technique chirurgicale & Chirurgie expérimentale	
Thérapeutique	

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET
MAITRES DE CONFERENCES - AGREGES

MM.

MM.

Anatomie	(CABROL (C.) (COUINAUD (C.) (OLIVIER (G.)	Obstétrique	(GRANJON (A.) (HERVET (E.) (LE LORIER (G.) (MORIN (P.) (MUSSET (R.) (ROBEY (M.) (THOYER-ROZAT (J.)
Anatomie pathologique	(GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) (pr. s. ch. (BUSSET (F.) (GOUYGOU (C.H.) (ORCEL (L.) (PAILLAS (J.)	Ophthalmologie	(BREGEAT (P.) (SARAUX (H.)
Anesthésiologie	(VOURECH (G.) (NEVOT (A.) pr.s.ch. (BARBIER (P.) (CHRISTOL (D.) (TOURNIER (P.)	Orthopédie	(JUDET (R.) (RAMADIER (J.) DEBAIN (J.)
Bactériologie	(DESGREZ (P.) pr.s.ch. (POLONOSKI (J.) m.conf.	Oto-Rhino-Laryngologie ...	(BRUMPT (N.C.) pr.s.ch. (CHABAUD (A.)
Biochimie médicale ...		Parasitologie	(BARCÂT (J.) (BINET (J.P.) (CAUCHOIX (J.) (CHATELIN (C.L.) (DUBOST (Ch.) (DUBOST (Cl.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)	Pathologie chirurgicale	(FAUREL (J.) (FLABEAU (F.) (GERMAIN (A.) (LAURENCE (G.) agr.per. (LORTAT-JACOB (J.L.) (LOYGUE (J.) (MERCADIER (PERROTIN (J.) (ROBERT (H.) (THOMERET (G.)
Carcinologie	(DENOIX (P.) (MATHE (G.)		(SCHNEIDER (J.)
Dermato-Syphilligraphie	DUPERRAT (B.)		(CROSNIER (J.) (HARTMANN (L.) (LOEPER (J.) (MAURICE (J.) (RICHEL (G.) (AUSSANNAIRE (M.) (BOUR (H.) (BOUVIER (J.) (BOUYRAIN (Y.) (BRICAIRE (H.) (BRISSAUD (H.) (BROCARD (H.) (BUGE (A.) (CASTAIGNE (P.) m.conf. (CATINAT (J.) (CONTAMIN (F.)
Electro-Radiologie ...	LEDOUX-LEBARD (G.)	Pathologie expérimentale ...	
Embryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.) pr.s.ch.		
Hématologie	(BILSKI-PASQUIER (G.) (DAUSSET (J.) (COUJARD (R.) pr.s.ch. (MAROIS (M.) (RACADOT (J.)	Pathologie exotique	
Histologie			
Hydrologie	CORNET (A.)		
Hygiène	(BOYER (J.) pr.s.ch. (CORRE-HURST (Mme L.) (BASTIN (R.) (DUPONT (V.) (DEROBERT (L.) pr.s.ch. (HADENGUE (A.) (BOURNIER (E.) (GUENIOT (M.)		
Maladies Infectieuses			
Médecine légale		Pathologie médicale	
Médecine du Travail....	ALBAHARY (C.)		
Neurologie	LHERMITTE (F.)		

Pathologie médicale	(CORY (C.)	Pneumo-phthisiologie	KREIS (B.)
	(FREZAL (J.)	Psychiatrie	PICHOT (P.)
	(HOSSET (E.)	Psychiatrie infantile ..	DUCHE (D.)
	(LAROCHE (Cl.)	Rhumatologie	DELBARRE (F.)
	(LESOBRE (R.)		(CERNEA (P.)
	(MACREZ (C.)		(CHAPUT (Mme A.) m.c.agr.
	(NICK (J.)		(GRELLET (M.)
Pédiatrie-Puériculture	(PEQUIGNOT (H.) M.conf.	Stomatologie	
	(ROYER (P.)		(CHASSAGNE (P.)
	(WOLFROMM (R.)	Thérapeutique	(LAMOTTE (M.)
	(JOSEPH (R.)	Urologie	QUENU (L.)
	(MANDE (R.)		
Pharmacologie	(MOZZICONACCI (P.)		
	(POLONOVSKI (C.)		
Physiologie	(ROSSIER (A.)		
	(BOISSIER (J.)		
Physique médicale ..	(LECHAT (P.)		
	(PARROT (J.) pr.s.ch.		
	(DEJOURS (P.)		
	(GOUGEROT (L.) m.conf.		
	(pr.s.ch.		
	(KELLERSHOHN		

III.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

Anatomie	(DEBEYRE	Clinique obstétricale	(GRASSET (J.)
	(ABOLKER (P.)		(LEPAGE (F.)
	(AMELINE (A.) pr.s.ch.		(MAYER (M.)
	(HUGUIER (J.)		(RAVINA (J.)
Clinique chirurgicale	(OLIVIER (C.)	Clinique Ophthalmologique ..	(DESVIGNES (P.)
	(PADOVANI (P.)		(OFFRET (G.)
	(POILLEUX (F.)	Clinique oto-rhino-laryngo-	
	(ROUX (M.)	logique,.....	MADURO (R.)
	(VERNE (J.-M.)		
Clinique médicale	(BOUDIN (G.)	Clinique pédiatrique et	
	(CONTE (M.)	puériculture	LAPLANE (R.)
	(DOMART (A.)	Clinique Psychiatrique ...	BARUK (H.)
	(PERRAULT (M.)	Clinique Urologique	KUSS (R.)
	(RAMBERT (P.)	Médecine légale	GAULTIER
	(THIEFFRY (S.)		
	(TURIAT (J.)		

IV - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES -

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr.s.ch.
Biochimie médicale	ETTORI (J.) Pr.à.t.pers.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr.s.ch.
Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Secrétaires	Mme BEURLAND (H.), Mlle CHAINTREUIL (G.), Mlle HURE (A.)
Conservateur en Chef	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), GOICHON (A.M.)
Bibliothécaires	(Mmes CONTET (J.), FORGET (F.) (Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIEVREUX (E.)

A Monsieur le Professeur René FAUVERT,
Professeur de Biologie Médicale

Il m'a accueillie dans son service, et
m'a permis de réaliser ce Travail. Qu'il
soit assuré de ma respectueuse admiration
et de mon dévouement.

A Monsieur le Professeur Agrégé Lucien HARTMANN,

Il a inspiré le sujet de ce travail,
et en a guidé toutes les étapes. Qu'il soit
assuré de toute ma reconnaissance.

A Madame FILLITTI-WURMSER,

A Monsieur le Docteur BOIVIN,

En remerciement de toute l'aide
qu'ils m'ont apportée au cours de ce
travail.

A mes Maîtres dans les hôpitaux :

Docteur CALVET

Professeur AMELINE

Docteur WORMS

Docteur HEWITT

Professeur LAMY

Professeur FAUVERT

I N T R O D U C T I O N

Depuis une vingtaine d'années, la mise à la disposition des biologistes de méthodes d'étude à la fois plus précises, et plus complexes a permis l'identification de toute une série de protéines physiologiques du sérum humain. Il n'est pas possible de définir une protéine d'après les renseignements fournis par une seule de ces techniques. Toute tentative d'identification doit donc reposer sur la confrontation des résultats obtenus par la combinaison de plusieurs méthodes. Cette notion fondamentale s'applique également aux modifications pathologiques des protéines dont la classification répond aux mêmes exigences. C'est ainsi qu'ont pu être distinguées les modifications purement quantitatives de telle ou telle variété de protéines et des altérations qualitatives. Mais les méthodes biologiques doivent être confrontées aux données de la clinique et c'est seulement de cette confrontation que peut résulter la notion d'identités pathologiques.

Les modifications protidiques les mieux connues sont celles portant sur les gamma-globulines dont on sait qu'elles peuvent résulter d'affections très diverses. L'étude des myélomes fournit un excellent exemple de la nécessité de l'emploi de multiples méthodes d'étude des protéines. Les anomalies protidiques de cette maladie ont d'abord été reconnues comme

quantitatives jusqu'à ce que la mise en évidence de propriétés immunologiques et physico-chimiques anormales ait permis de les classer parmi les paraprotéines. L'histoire des constituants lourds du sérum et de leurs modifications pathologiques paraît suivre un cours très analogue. En effet, c'est tout d'abord par ultracentrifugation que leur existence même a été mise en évidence, c'est par cette même méthode que leur augmentation a été décelée dans diverses affections. Puis, les méthodes électrophorétiques et immunochimiques ont dissocié le "pic" des constituants lourds de l'ultracentrifugation en plusieurs variétés de protéines dont 2 au moins sont aujourd'hui bien connues, l'alpha-2 et la bêta-2-macroglobuline. Il a dès lors été possible de séparer des affections caractérisées par une augmentation des constituants lourds en 2 groupes :

- celui des hyper alpha-2-macroglobulines
- celui des hyper bêta-2-macroglobulines

Dans ce dernier cadre, se situe une affection bien caractérisée, "la macroglobulinémie de Waldenström", dans laquelle, pour des raisons que nous indiquerons plus loin, à l'augmentation d'une macroglobuline du type bêta-2, s'associent des altérations qualitatives qui devraient en permettre le classement dans les paraprotéines.

L'objet de la présente thèse, est d'exposer les techniques physico-chimiques et immunologiques, indispensables en biologie médicale, pour déceler les macromolécules sériques, avant le contrôle de l'ultracentrifugation, et de donner un tableau d'ensemble des affections comportant une augmentation de ces constituants lourds.

P L A N

Dans cet exposé, nous verrons successivement les points suivants :

- 1) La description des techniques utilisées.
- 2) La mise en évidence par confrontation de l'immunoélectrophorèse, et de l'ultracentrifugation des macromolécules sériques normales.
- 3) Les augmentations pathologiques des macromolécules

A - Augmentation de l'alpha-2 lourde

B - Augmentation de la bêta-2 macroglobuline

Nous distinguerons :

- les augmentations modérées
- les augmentations importantes supérieures à 10 % du taux des protides sanguins.

A ce propos nous définirons le syndrome biochimique de Waldenström.

Une étude de ce syndrome sera faite à partir de 21 observations personnelles.

- 4) Les principaux travaux sur la composition chimique de la macromolécule bêta-2.

MATERIEL ET METHODES

I - Le dosage des protides totaux du sérum, et de ceux des solutions de protéines isolées.

Il a été effectué :

- soit par la réaction du biuret,
- soit par détermination de l'azote total par la microméthode de KJELDAHL.

2 - L'électrophorèse différentielle sur papier.

Elle a été faite en tampon véronal à pH 8,6 avec une force ionique de 0,1. Les protéines sont colorées par le bleu de bromophénol, les lipoprotéines par le noir cérol, les glucoprotéines par l'acide périodique SCHIFF.

3 - L'électrophorèse à travers gel d'amidon.

La technique utilisée est celle décrite par MORETTI (42) ou une microméthode qui en est dérivée.

4 - La réaction de Sia (58)

A 5 ml d'eau distillée on ajoute 1 goutte de sérum à analyser.

Normalement le liquide reste limpide avec tout au plus un léger trouble tardif.

5 - La courbe de SANDOR VARGUES (63)

On utilise le tampon universel de BRITTON et ROBINSON dilué au 1/8 dans l'eau distillée (acide phosphorique pur 3,42 g;

acide acétique pur 2,40 g; acide borique pur : 2,48 g ; eau distillée Q.S.P. 1000 ml) et la soude N/20.

On prépare extemporanément une série de solutions en ajoutant à 40 ml de tampon des quantités croissantes de soude (2 à 11 ml). A 2 ml de chaque échantillon ainsi obtenu, on ajoute 0,05 ml de sérum. Les densités optiques sont lues au bout d'une demi-heure au photomètre de Vernes, et les pH des solutions sont mesurées (pH variant de 4 à 8,2). On construit ensuite la courbe de turbidité en fonction du pH.

6 - Préparation des béta-2-macroglobulines pathologiques.

Lorsque la béta-2-macroglobuline pathologique est une euglobuline ; celle-ci précipite soit par dilution dans l'eau distillée (58), soit, comme l'étude de la courbe de SANDOR et VARGUES nous l'a montré, en milieu alcalin, à pH 8. C'est la raison pour laquelle la préparation de la macroglobuline peut alors être faite par dialyse contre un tampon à pH 8.

Le sérum dont on veut extraire l'euglobuline est placé dans des sacs de cellophane et mis à dialyser pendant 24 h. à + 4° C contre une solution tampon de pH 8. On utilise le tampon universel de BRITTON et ROBINSON déjà décrit. Celui-ci est dilué au 1/8 dans l'eau distillée et additionné de soude N/20 afin d'obtenir un pH final de 8.

Solution tampon de BRITTON ROBINSON au 1/8 : 40 ml

Soude N/20 : 10 ml

Après 24 heures de dialyse le précipité qui s'est formé au fond des sacs de cellophane est séparé par centrifuga-

tion. Il est ensuite lavé 5 fois avec la solution tampon de pH 8 (environ 10 ml pour chaque lavage).

Préparation des cryoglobulines précipitantes et gélifiantes

a) précipitantes

Les sérums sont gardés à 37° C, centrifugés à 37° pour éliminer les impuretés, puis refroidis à 4° pendant 24 h. Un précipité se forme; il est alors séparé par centrifugation, lavé avec du soluté chloruré sodique physiologique, puis de nouveau centrifugé; lavages et centrifugations sont effectués à 4°C et sont répétés 3 ou 4 fois. On obtient un précipité blanc très pur de cryoglobulines.

b) gélifiantes

Le sérum est dilué au 1/3 dans du soluté chloruré sodique physiologique à 37°C, puis laissé à la température du laboratoire. La solution se prend en masse. Il est alors centrifugé à la température de 20°C. Le précipité obtenu est récupéré, puis lavé au sérum physiologique, et de nouveau centrifugé. Lavages et centrifugations sont répétés 3 ou 4 fois. Le précipité obtenu est alors parfaitement pur. Il est remis en solution à 37°C.

Sur cette solution de macroglobuline seront pratiqués un dosage des protides totaux, une électrophorèse sur papier, une immuno-électrophorèse, une ultracentrifugation. Ces mêmes examens sont pratiqués sur le surnageant après précipitation des euglobulines ou des cryoglobulines comme il vient d'être indiqué.

7 - L'étude de la diffusion des antigènes et des anticorps en milieu gélifié.

Elle a été faite selon la microméthode dérivée de la technique d'OUCHTERLONY (45).

Cette technique a été appliquée aux sérums totaux, aux précipités de macroglobuline, à leurs surnageants, parfois aux liquides biologiques.

8 - Immuno-électrophorèse.

Elle a été pratiquée sur les sérums totaux, les précipités de macro- et cryoglobulines, leurs surnageants, et dans certains cas, dans d'autres liquides biologiques (urines concentrées, liquide pleural).

Les immunsérums utilisés sont les suivants :

- a) un immunsérum de cheval antisérum humain normal, hyper-immunisé (1299) de l'Institut Pasteur, le même immunsérum épuisé par les gammaglobulines (1299bis), le même immunsérum épuisé par les macroglobulines (1299ter). Un autre immunsérum 491.
- b) des immunsérums de lapin antimacroglobuline (26).

Ceux-ci sont préparés par injection d'un mélange d'une macroglobuline isolée par précipitation avec des substances adjuvantes de FREUND. On ajoute à la solution adjuvante une solution de macroglobuline telle que à 1 ml d'émulsion totale correspondant 5 mg de macroglobulines.

Chaque semaine on injecte aux lapins par voie sous-cutanée des doses croissantes du mélange antigénique : en tout

8 injections comportant en macroglobulines 0,5 mg (1 injection), 1 mg (3 injections), 1,5 mg (1 injection), 2 mg (3 injections).

On attend 3 semaines après la dernière injection puis on recueille le sérum du lapin ; on étudie sa teneur en anticorps par la méthode de l'anneau de précipitation à différentes dilutions.

L'immunoélectrophorèse a toujours été pratiquée suivant la microméthode de SCHEIDEGGER (55) dérivée de la méthode de GRABAR et WILLIAMS (22). Les plaques sont colorées par l'amidoSchwartz.

9 - Ultracentrifugation.

Elles ont été faites à la station centrale du Centre National de la Recherche Scientifique (Directeur : R. WURMSER) à partir des sérums totaux, des précipités de macroglobulines et de cryoglobulines, des surnageants et de certains liquides biologiques.

L'appareil utilisé est l'ultracentrifugeuse Spinco, modèle analytique E.

Les conditions d'expérience sont les suivantes :

- Température réglée à 20°C ou 37°C
- Vitesse de rotation 59 780 tours par minute
- Champ centrifuge moyen de 250 000 g.

Pour chaque solution les ultracentrifugations ont été faites à trois dilutions en utilisant une solution saline à pH 7,35 de composition suivante :

- ClNa anhydre	8 g
- $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	1,359 g
- PO_4HNa_2 (+ 12 H_2O)	2,281 g
- H_2O Q.S.P.	1 000 ml

On obtient les vitesses de sédimentation des constituants de chaque échantillon. Les constantes de sédimentation sont calculées par extrapolation à la dilution infinie. Elles sont exprimées en unités Svedberg. Les chiffres obtenus donnent les constantes de sédimentation des constituants dans le tampon. Un facteur correctif, tenant compte des différences de viscosité du tampon et de l'eau, permet de calculer les constantes de sédimentation dans l'eau. (Dans les conditions d'expérience, on multiplie les chiffres obtenus par 1,04119).

Dans le cas où la température au cours de l'expérience n'était pas exactement à 20°C, les chiffres de vitesse de sédimentation ont été corrigés par un facteur tenant compte des différences de viscosité de l'eau entre 20°C et la température notée.

Dans les conditions d'expérience, les ultracentrifugations des sérums normaux montrent trois constituants dont les constantes de sédimentation et les pourcentages ont été établis à partir de 10 sérums normaux. On obtient les moyennes suivantes:

Constantes de sédimentation		Pourcentages
A = S_{20}	4,2 ± 0,5	87 ± 5 %
G = S_{20}	6,4 ± 0,4	10,7 ± 5 %
M = S_{20}	17 ± 0,5	2,3 ± 0,7 %

Le pic "A" correspond à des protéines de poids relativement faible (de l'ordre de 60 à 70 000) dans lequel le sérum albumine tient une place prépondérante à côté de diverses fractions globuliniques.

Le pic "G" est constitué de protéines d'un poids moléculaires de l'ordre de 100 à 160 000 et comprend essentiellement les gammaglobulines.

Le pic "M" répond aux constituants lourds du sérum dont le poids moléculaire est voisin de un million.

MISE EN EVIDENCE DES MACROMOLECULES SERIQUES NORMALES

I - DEFINITION DES MACROMOLECULES

C'est grâce à la technique d'ultracentrifugation appliquée en 1935 par MAC FARLANE, puis en 1938 par PEDERSEN que l'on a pu parler de protéines sériques de haut poids moléculaire; celui-ci est de l'ordre de un million.

Conventionnellement, nous appellerons macroglobulines sériques les constituants de constante de sédimentation (65) égale ou supérieure à S_{20}^{15} à l'ultracentrifugation.

Le domaine des macromolécules ne possède pas de limites précises. Il est quasi illimité du côté des plus fortes masses macromoléculaires qui dépassent souvent le million ; il se raccorde pour les plus faibles masses moléculaires au domaine des petites molécules par une zone de transition mal définie. La grande taille de ces macromolécules leur confère des propriétés physico-chimiques et mécaniques particulières.

2 - MISE EN EVIDENCE

Par définition même, c'est à partir des données de l'ultracentrifugation et d'elles seules que l'on peut affirmer la présence et l'augmentation de macromolécules dans le sérum humain. Seule l'ultracentrifugation en permet une mesure quantitative. Par contre, cette méthode d'étude ne permet pas l'analyse

qualitative des constituants lourds. La confrontation des données de l'ultracentrifugation, de celles de l'électrophorèse et de celles de l'immuno-électrophorèse a permis, d'une part de déceler la présence de constituants lourds, d'autre part de les identifier en au moins deux macroglobulines : alpha-2-M et bêta-2-M.

Rappelons l'essentiel des recherches de telles concordances entreprises par FILLITTI-WURMSER, M.P. HUGOU et L. HARTMANN (20).

Matériel

Pour épurer et enrichir le sérum normal en macromolécules, l'ultracentrifugation a été faite dans une cellule à 2 compartiments. La cellule d'ultracentrifugation était analogue à celle de SVEDBERG et PEDERSEN, les 2 compartiments axial et périphérique, étant séparés par une cloison perforée en bakélite recouverte de papier filtre (papier Whatman N° 2). L'ultracentrifugation fut faite dans les conditions habituelles déjà décrites.

La particularité réside dans la différenciation et la surveillance du pic "M". Dans un premier temps, il émigre dans le compartiment axial, disparaît à travers la cloison de séparation, et secondairement, apparaît dans le compartiment périphérique de la cellule.

Après passage du pic "M" dans le compartiment périphérique, l'ultracentrifugation analytique est arrêtée; la cloison perforée recouverte de papier Whatman empêche le mélange des deux solutions protéiques contenues dans les compartiments axial

et périphérique. Le premier contient toutes les protéines sériques, moins les macromolécules, le second ces mêmes protéines enrichies en macromolécules. Un prélèvement est fait dans deux compartiments.

Une analyse immuno-chimique est pratiquée à partir de trois échantillons : sérum normal et les deux prélèvements, axial et périphérique. Afin de pouvoir comparer les résultats, les quantités de protéines en solution, déposées dans les godets de départ, sont égales.

Résultats

Deux lignes de précipitation antigène-anticorps de mobilité alpha-2 et Béta-2 disparaissent sur la deuxième immuno-électrophorèse pour réapparaître très nettement dans le troisième. Il s'agit donc bien de constituants protéiques lourds du sérum normal.

Les constituants alpha-2-M et bêta-2-M sont donc bien des constituants protéiques lourds du sérum normal. Mais le pic "M" du sérum normal contient probablement d'autres constituants lourds, les auteurs étaient tributaires d'un immunosérum. Il est très vraisemblable que cet immunosérum ne contenait pas des anticorps vis-à-vis de toutes les macromolécules. D'ailleurs il est démontré aujourd'hui que les agglutinines naturelles anti-A et anti-B, de haut poids moléculaires, font partie d'un constituant de constante de sédimentation S_{20}^{19} .

D'une telle confrontation, ressort l'identification sur les plaques d'immuno-électrophorèse des traits correspondant

à l'alpha-2 et la bêta-2-macroglobulines. Par une comparaison analogue entre les données de l'ultracentrifugation et de celles de l'électrophorèse à travers gel d'amidon, il a été possible d'identifier la bande répondant dans le gel après coloration à l'alpha-2-macroglobuline. Par contre, il n'a pas été possible jusqu'ici d'identifier sur gel d'amidon la bêta-2-macroglobuline.

L'utilisation systématique de l'immuno-électrophorèse et de l'électrophorèse à travers gel d'amidon permet donc d'apprécier l'alpha-2 et la bêta-2-macroglobuline, et dans une certaine mesure d'en déceler les modifications quantitatives. L'élargissement de la bande correspondant à l'alpha-2 lourde sur le gel d'amidon, l'accentuation du trait ou la formation d'un renflement intéressant tout le trait de précipitation antigène-anticorps sur la lame d'immuno-électrophorèse aux places occupées par ces 2 macromolécules témoignent d'une augmentation de celles-ci. Cependant, si une hyper-alpha-2 ou bêta-2 macroglobulinémie peuvent être décelées par ces méthodes, elles ne peuvent en aucun cas être évaluées; l'immuno-électrophorèse en particulier n'est pas une méthode quantitative; on peut tout au plus la considérer comme une méthode semi-quantitative. Seule l'ultracentrifugation permet une mesure quantitative. Les méthodes précédentes ont toutefois le grand mérite de sélectionner les sérums qui doivent être soumis à cette analyse, avantage certain, lorsqu'on connaît la longue durée d'un tel examen.

AUGMENTATION PATHOLOGIQUE DE L'ALPHA-2 LOURDE

Depuis la pratique de l'ultracentrifugation des sérums pathologiques, il est signalé par plusieurs auteurs une élévation importante d'un constituant macroglobulinique au cours des néphroses lipoïdiques, des glomérulo-néphrites avec syndrome néphrotique, d'amyloses à côté de celles observées dans toute une série d'autres affections. C'est seulement la confrontation des données de l'ultracentrifugation et de celles de l'électrophorèse à travers gel d'amidon et de l'immuno-électrophorèse qui permet d'affirmer que dans ce cadre particulier, l'augmentation du constituant lourd à l'ultracentrifugation est due à l'augmentation de l'alpha-2 lourde de SCHULTZE (56).

Nous allons étudier l'augmentation de cette macroglobuline alpha-2 au cours des syndromes néphrotiques, et dans un cas d'agammaglobulinémie.

1) Les syndromes néphrotiques (29)

a) Pour tous ces sérums ont été pratiqués: un dosage des protides totaux, une électrophorèse sur papier, une électrophorèse à travers gel d'amidon, une immunoélectrophorèse.

b) L'étude des modifications des protéines sériques a été entreprise systématiquement dans 30 cas de syndrome néphrotique comprenant :

- 17 syndromes néphrotiques purs (10 adultes, 7 enfants) répondant à la définition du syndrome néphrotique.

- 13 syndromes néphrotiques secondaires, dans 6 cas, à une glomérulo-néphrite, dans 4 cas à un lupus érythémateux disséminé, dans 3 cas à une amylose rénale.

Le fait biologique capital auquel nous limiterons le présent exposé est l'augmentation, à côté de celle de l'haptoglobine et de l'alpha-2-lipoprotéine, de l'alpha-2 lourde de SCHULTZE. Cette augmentation est apparue comme constante, quel que soit le type primitif ou secondaire du syndrome néphrotique. Elle se manifeste avec évidence sur l'immunoélectrophorèse où le trait de précipitation est considérablement épaissi et sur l'électrophorèse à travers gel d'amidon où la bande de "Slow alpha-2" répondant à ce même constituant macroglobulinique est élargie.

Dans les 3 cas où l'ultracentrifugation a été pratiquée, le taux des protides totaux du sérum est respectivement de 43, 45 et 36 g. par litre, le pic des constituants lourds est nettement augmenté dans les 3 cas, les pourcentages de macromolécules étant respectivement 7, 14 et 25. Soulignons que dans ces trois cas où la confrontation a été possible entre l'ultracentrifugation et l'immunoélectrophorèse, cette dernière n'a montré aucune modification notable du trait de précipitation de la bêta-2-macroglobuline. La pratique sur une très large échelle de l'immunoélectrophorèse n'a pas permis jusqu'ici de déceler des modifications importantes de l'alpha-2 lourde en dehors des syndromes néphrotiques. Ainsi donc l'augmentation de

l'alpha-2 lourde vient, dans le cadre des syndromes néphrotiques expliquer, à côté de celle de l'haptoglobine et de l'alpha-lipo-protéine la très importante augmentation des alpha-2 globulines. Le mécanisme de ces hyper alpha-2 macroglobulinémies n'est pas actuellement démontré.

2) Les Agammaglobulinémies

Nous reprenons l'étude de l'observation de SIGUIER et coll. (59). Il s'agit d'une agammaglobulinémie dite "acquise" de l'adulte.

L'étude immuno-électrophorétique du sérum montre une disparition complète du trait de précipitation de la bêta-2 macroglobuline, outre ceux des bêta-2-A et des gammaglobulines; celui de l'alpha-2 lourde ne paraît pas modifié. Mais l'ultra-centrifugation du sérum met en évidence 4 % de constituant lourd. Celui-ci correspond donc uniquement à la macroglobuline alpha-2 ce qui donne un taux nettement augmenté.

En conclusion, on a longtemps confondu les augmentations de la bêta-2 macroglobuline et de l'alpha-2 lourde. Dans leur classification, MICHON et STREIFF citent les syndromes néphrotiques et les agammaglobulinémies comme étiologies des hypermacroglobulinémies bêta-2. Personnellement, nous pensons que l'augmentation des constituants lourds se fait toujours au profit des macromolécules alpha-2 au cours des syndromes néphrotiques. Dans les cas d'agammaglobulinémie, l'anomalie protéique macromoléculaire serait variable: augmentation de l'alpha-2

lourde (observation de SIGUIER et coll.) augmentation de la bêta-2 lourde (observation d'ISRAEL et coll. (32)). Le nombre de cas d'agammaglobulinémies étudiées par toutes ces techniques d'analyse est encore trop restreint pour permettre une schématisation.

AUGMENTATION PATHOLOGIQUE DE LA BETA-2 LOURDE

A travers la littérature il existe un très grand nombre d'observations biologiques d'augmentation du constituant lourd à l'ultracentrifugation. De façon schématique, on peut distinguer d'après ces données des "macroglobulinémies secondaires", et des "macroglobulinémies primitives". Parmi les premières se place une augmentation du pic "M" observée par exemple au cours des

- affections hépatiques
- " rhumatismales
- " parasitaires

etc....

alors que la "maladie de Waldenström" semble occuper le cadre de la macroglobulinémie primitive. L'analyse détaillée des observations publiées montre que le pourcentage de constituants lourds présent dans chacun de ces deux groupes est sensiblement différent : dans la majorité des cas, la quantité de constituants lourds est très importante dans le cadre de la maladie de Waldenström, et modérément augmentée dans la macroglobulinémie secondaire. Cependant, des cas intermédiaires semblent exister, si l'on se base seulement sur cette détermination quantitative.

En outre, la confrontation des données de l'ultracentrifugation, de l'électrophorèse, et de l'immunoélectrophorèse, permet d'affirmer que le constituant lourd est constitué dans tous ces cas par une macroglobuline bêta-2, ce qui le différencie nettement de celui décrit précédemment. D'après les données de la littérature et l'analyse de très nombreux sérums par les méthodes exposées, il nous paraît justifié de proposer un classement des hyperbétamacroglobulinémies reposant sur le degré d'élévation des constituants lourds. Dans le tableau de la page 20, deux classes sont ainsi proposées, celle où l'augmentation de la macroglobuline est modérée, et celle où l'augmentation est très importante, sans que l'on puisse superposer étroitement ces deux groupes respectivement aux macroglobulinémies secondaires et primitives.

MACROGLOBULINES SÉRIQUES
=====

ALPHA-2

BETA-2

	Augmentation modérée	Augmentation importante
(Schultze)		
Néphroses	Hépatites virales " parasitaires Cirrhoses d'étiologie connue " " inconnue	"SYNDROME DE WALDENSTRÖM" Trypanosomiase Splénomégalias africaines
Amyloses	Polyarthrite chronique évolutive Sclérose en plaque etc...	Lymphosarcomatose Leucémie lymphoïde Leucémie à plasmocytes Myélome
Agammaglobulinémies		Cancer etc .. "MA LADIE DE WALDENSTRÖM"

I - Augmentation modérée de la bêta-2-M -

Dans la quasi totalité des cas, nous nous sommes basés pour affirmer l'augmentation modérée de la bêta-2-M sur les données de l'immunoélectrophorèse, ce qui est justifié d'après l'exposé que nous avons fait antérieurement. Dans quelques cas, l'élévation de la macroglobuline a été exprimée quantitativement d'après les données de l'ultracentrifugation. Arbitrairement, on peut considérer comme modérées des augmentations du constituant lourd allant jusqu'à 10 %. Voici les affections au cours desquelles un tel type d'augmentation a été rencontré:

1) Affections hépatiques (28)

A/- Dans les hépatites aiguës virales, l'augmentation de la bêta-2-M est quasi constante. Nous l'avons observée dans 20 cas sur 24 par l'étude immunoélectrophorétique. A titre d'exemple, nous indiquerons les résultats de l'ultracentrifugation, pratiquée sur un de ces sérums : le pic des constituants lourds représentait 5 % des protéines totales.

La bêta-2-M varie selon un schéma évolutif voisin de celui des éléments biologiques du syndrome inflammatoire, et en particulier de celui des réactions de floculation. Il existe d'ailleurs une corrélation statistique entre la positivité de la réaction du thymol de MAC LAGAN et l'augmentation de la bêta-2-macroglobuline.

L'étude du devenir de la bêta-2 macroglobuline au cours de l'hépatite d'impaludation a pu être suivie de manière quasi expérimentale.

Au cours de l'hépatite palustre d'inoculation (54) (impaludation utilisée comme traitement de la paralysie générale) le comportement de la bêta-2-M est tout à fait identique à ce que l'on observe au cours de l'hépatite virale : on peut en suivre l'augmentation progressive, puis la diminution. L'élévation de la bêta-2-M devient évidente à partir du 3^e accès palustre, et se poursuit parallèlement à l'augmentation des gamma-globulines et à l'évolution des réactions de floculation.

On observe également une augmentation modérée de la bêta-2-M dans d'autres variétés d'hépatites : celle de la mononucléose infectieuse, celle de la distomatose par exemple.

B/- Dans les hépatites chroniques et les cirrhoses, l'élévation des constituants lourds du sérum n'est pas rare (17).

1) Dans les cirrhoses éthyliques, sur 28 sérums étudiés par la méthode immuno-électrophorétique (avec l'immunsérum n°491 de l'Institut Pasteur), l'augmentation de la bêta-2-M a été constatée 25 fois; dans 8 cas elle était associée à une précipitation en arrière du godet de départ sur laquelle nous aurons l'occasion de revenir plus loin. La présence ou l'absence d'ascite n'est pas un facteur déterminant dans les modifications de la bêta-2-M. Pour certaines de ces cirrhoses, il a été possible de faire pratiquer une ultracentrifugation analytique; celle-ci a confirmé l'élévation modérée du constituant lourd, nous en donnons ci-contre un exemple ; ce sérum comprend 7 % de constituant lourd de constante de sédimentation $S_{20}^{16,7}$.

2) Dans les cirrhoses post-hépatitiques, l'élévation de la β -2-M a été observée dans chacun des 6 cas étudiés. L'ultracentrifugation a confirmé, lorsqu'elle a pu être pratiquée l'élévation modérée des constituants macroglobuliniques β -2-M. En voici un exemple : on retrouve 8 % de constituant de constante de sédimentation $S_{20}^{16,8}$.

3) Les hémochromatoses : sur 6 cas, l'augmentation de la β -2-M a été notée par l'immunoélectrophorèse 5 fois; 4 fois cette augmentation est très importante, et dans 3 cas elle s'accompagne d'un précipité en regard du godet de départ.

4) L'élévation de la β -2-M a été constatée en outre dans plusieurs cas de cirrhoses d'étiologie indéterminée, sans que l'importance des modifications n'apparaisse comme notablement différente de ce que l'on observe au cours des cirrhoses éthyliques, post-hépatitiques ou bronzées.

En conclusion, au cours des cirrhoses, l'augmentation de la β -2-macroglobuline est d'une très grande fréquence, quelle que soit la variété ou l'étiologie de la maladie, qu'elle s'accompagne ou non d'une splénomégalie importante, en sorte que, il ne nous paraît pas justifié d'isoler une variété particulière de cirrhose avec macroglobulinémie. (CATTAN) (6). De la même manière qu'au cours des hépatites aiguës, l'augmentation de la β -2-M dans les hépatites chroniques va de pair avec la positivité des réactions de floculation, et avec l'augmentation d'autres variétés de globulines : gammaglobulines, β -2-A globulines.

C/- D'autres affections hépatiques sont susceptibles de s'accompagner d'une augmentation modérée de la bêta-2-macroglobuline. Tel est le cas des cancers primitifs ou secondaires du foie.

Les données ci-dessus confirment et précisent les observations de BOLT (3), JAHNKE et SCHOLTAN (33), DI GUGLIELMO (24)

2) Les polyarthrites chroniques évolutives

Onze cas de polyarthrite chronique évolutive ont été étudiés par la méthode immuno-électrophorétique. Dans la majorité des cas, la bêta-2-M était notablement augmentée. Ce fait prend une importance toute particulière depuis que les travaux de FRANCK et coll. (21) ont démontré que l'un des facteurs "rhumatoïdes" faisait partie des constituants lourds du sérum, qu'il semblait pouvoir être antigéniquement identifié à la bêta-2 macroglobuline.

3) La sclérose en plaques

L'étude immunoélectrophorétique a porté sur 61 cas ; elle a été faite à partir des sérums purs et dilués à 50 %. D'après les données de la clinique, nous avons distingué 30 cas de S.E.P. en poussée évolutive, et 31 cas en phase de rémission. Les résultats sont identiques quelle que soit la phase de la maladie. 12 fois sur 30 dans le Premier cas, la bêta-2-M est augmentée, 14 fois sur 31 dans le second cas. L'ultracentrifugation n'a pas été pratiquée.

Enfin, à travers les données de la littérature, il ressort que les constituants lourds du sérum, très vraisemblablement du type bêta-2, sont susceptibles d'être modérément augmentés dans d'autres affections encore :

- Périartérite noueuse (64)
 - Lupo érythématoviscérite (64)
 - Affections rhumatismales (62)
 - Syndrome de FELTY (10)
-

2 - Augmentation massive de la macroglobuline -

Elle a été décrite tout d'abord par WALDENSTRÖM (66), et fut à l'origine de l'isolement d'une maladie caractérisée par des signes cliniques, hématologiques et biologiques, et connue sous le nom de maladie de Waldenström. Depuis 1944, les observations d'une telle affection se sont multipliées sous le nom de macroglobulinémie de Waldenström, et en 1958, KAPPELER et collaborateurs (34) faisaient état de 107 cas publiés.

Dans un premier temps, nous étudierons le syndrome biochimique de la maladie de Waldenström. Cette étude portera sur les signes protidiques de la maladie, sans préjugé s'il s'agit d'une macroglobulinémie essentielle ou secondaire. Puis nous étudierons les résultats obtenus à partir de 21 observations personnelles.

A - Syndrome biochimique de la maladie de Waldenström

Les modifications biologiques intéressent essentiellement les protides sanguins. On connaît la diversité des investigations qui peuvent être entreprises dans ce domaine. Toutefois l'étude de 21 observations nous a révélé que certaines d'entre elles étaient suffisamment caractéristiques pour permettre l'individualisation d'un "syndrome biochimique" de cette affection. Nous définirons ce syndrome biochimique grâce à un certain nombre d'examens :

a) Le dosage des protides totaux.

La forte augmentation des protides sanguins doit faire suspecter à elle seule une dysprotéïnémie. Devant un chiffre élevé, supérieur à 100 g. par litre, on devra immédiatement soupçonner, tout au moins sous nos climats, un myélome ou une maladie de Waldenström.

b) L'électrophorèse sur papier du sérum.

Cette méthode, très pratique, offre un grand intérêt pour le dépistage de la maladie.

- après coloration par le bleu de bromophénol, ou l'amido-Schwartz, on retrouve dans tous les cas une tache dense, homogène évoquant une surimpression sur le protidogramme normal, parfois tellement importante qu'elle masque quelques autres constituants.

Mais la migration électrophorétique de cette tache anormale est variable; le plus souvent, elle migre, comme les gammaglobulines, parfois comme les bêta-globulines,

- la coloration par l'acide périodique Schiff montre la forte teneur en glucides, du composé anormal, ce que confirme l'étude chimique, comme nous le verrons plus loin,

- la coloration au noir cérol met en évidence la grande richesse en lipides. Ces derniers seraient liés aux composés macromoléculaires.

c) La réaction de Sia à l'eau distillée.

La macromolécule, dans la majorité des cas, précipite à l'eau distillée: se comportant comme une euglobuline.

Après addition d'une goutte de sérum dans 5 ml d'eau distillée, il se forme immédiatement un précipité qui, en moins

de 4 secondes, tombe au fond du tube, et y reste aggloméré. Parfois, un fin réticulum relie ce précipité à la surface de l'eau. Cet aspect correspond à une augmentation massive des macro-euglobulines.

d) La courbe d'insolubilité des euglobulines en fonction du pH de Sandor et Vargues.

Son aspect est très spécial, caractérisé par la hauteur de la flèche, qui atteint environ le triple de celle de la courbe normale, et la forme diphasique de la courbe qui possède deux sommets vers les pH 6 et 8. Cette silhouette semble très caractéristique de la macroglobulinémie de Waldenström, et nous ne l'avons jamais rencontrée dans d'autres affections. A pH 8, et jusqu'au pH 4, le tampon de Vargues fait flocculer la macroglobuline à la fois par la dilution du sérum et la variation du pH de la solution. Le deuxième pic, à pH 6 serait dû à la flocculation de cette macroglobuline et à la précipitation simultanée des autres euglobulines du sérum.

e) L'étude immuno-électrophorétique

Les renseignements concernent essentiellement le trait de précipitation antigène anticorps de la macromolécule bêta-2. La lecture des plaques d'immuno-électrophorèse révèle deux ordres de faits.

- une augmentation du trait de la bêta-2-macroglobuline
- un précipité en regard de celui-ci.

Le trait de précipitation de la bêta-2-macroglobuline est particulièrement net sans comparaison avec le trait longitudinal à peine visible, observé dans les sérums normaux. Ce trait

affecte une forme particulière, double courbure, ou arc de cercle à grand rayon, ce qui explique que ce trait puisse être déplacé vers la source des anticorps.

Outre ce trait, on observe une précipitation protéique; celle-ci peut être localisée au godet de départ, ou siéger en arrière. Dans ce dernier cas, cette précipitation est au centre de l'arc bêta-2-M précédemment décrit. Les conditions physiques de l'électrophorèse sur gélose à pH 8,6 expliquent en partie cette précipitation.

f) L'ultracentrifugation

Elle permet de mettre en évidence l'augmentation du constituant lourd. Il s'agit dans tous les cas d'une augmentation importante de ce composé; le pourcentage des constituants lourds varie aux environs de 35 % dans le sérum. Il existe non pas un, mais deux ou trois constituants lourds, l'un d'entre eux est toujours nettement prédominant quantitativement, celui dont la constante de sédimentation est voisine de S_{20}^{17} . Ce constituant est le composé essentiel, les autres ne représenteraient que des agrégats.

B - Analyse de nos observations personnelles.

Mais il est bien évident que pour chaque élément la réponse n'est pas toujours aussi caractéristique. Dans quelques cas on peut constater une protidémie inférieure à 80 g/l, ou une réaction de Sia non caractéristique, ou une courbe de SANDOR VARGUES sans aspect diphasique. C'est la raison pour laquelle nous allons reprendre l'étude de chacun de ces éléments du syn-

drome biochimique pour nos 21 observations, ceci afin de leur assigner une valeur diagnostique pour l'étude de la maladie.

a) Dosage des protides totaux du sérum

- Nous avons distingué des augmentations importantes supérieures à 100 g par litre; une telle augmentation doit suggérer l'existence d'une dysprotéïnémie. Dans 13 cas sur 21, les protides dépassent 100 g par litre, atteignant une fois 130 grammes par litre.

- Parfois, l'augmentation est modérée, n'apportant aucun élément en faveur d'un tel diagnostic. Il en est ainsi 5 fois sur 21.

- Parfois même, la protidémie est normale, inférieure à 80 g. par litre, ce que l'on a observé dans 3 cas sur 21.

Ces données sont en accord avec celles de la littérature (41).

b) L'électrophorèse différentielle sur papier

L'étude du protidogramme retrouve toujours la tache correspondant aux constituants anormaux. Nous avons constaté des variations de mobilité de ces constituants; les migrations ont été étudiées par rapport aux électrophorèses normales dans lesquelles nous distinguons albumine, alpha-1, alpha-2, bêta et gamma-globulines.

Les macromolécules peuvent migrer comme les gammaglobulines normales, plus lentement (gamma-lentes) ou plus rapidement (bêta-gammas). Certains auteurs désignent ce dernier type sous le nom de phi.

PROTIDES TOTAUX G o/oo

(21 Observations)

Protides totaux ≤ 80	$80 < \text{Protides totaux} < 100$	Protides totaux ≥ 100
3	5	13

SIA

SANDOR-VARGUES

Caractéristique	15	Caractéristique	15
Douteux	1	Non Caractéristique ou Normal	3
Négatif	2		
Total	18		18

Dans 5 cas, le constituant est de mobilité de type gamma lente; dans 9 cas, de type gamma ; 5 fois la mobilité est intermédiaire (bêta-gamma), enfin une seule fois, le constituant migre comme les bêtoglobulines normales.

La coloration par l'acide périodique SCHIFF et par le noir cérol montre la forte teneur en glucides et en lipides du composé anormal.

Ces résultats concordent avec ceux retrouvés dans la littérature. KAPPELER et coll. (34) dans leur revue générale à partir de 107 cas, notent 75 fois une mobilité de type gamma, et 13 fois de type phi. Ils retrouvent enfin 18 cas de mobilité de type bêta, et constatent une seule fois une mobilité de type alpha.

L'électrophorèse de TISELIUS a permis de mettre en évidence trois fois dans la littérature (34) l'existence d'un double sommet.

MOBILITE ELECTROPHORETIQUE
DU CONSTITUANT ANORMAL
(20 Observations)

Mobilité bêta	1
Mobilité bêta-gamma	5
Mobilité gamma	9
Mobilité gamma lent	5

c) L'électrophorèse à travers gel d'amidon

Elle a été faite seulement dans 5 cas. Tous les cas étudiés ont montré un simple déplacement des gamma-globulines vers l'anode, sans migration du composé anormal. CREYSSEL et FINE (11) ne retrouvent aucune anomalie décelable. Ils attribuent ce fait à la non-migration de la macroglobuline dans le gel. STEEL (61) pense que la non-migration à travers le gel serait due non seulement à la taille de la molécule, mais surtout à son asymétrie. En effet, l'alpha-2-lourde migre dans le gel. En réalité, il semble que la macromolécule précipite sur place par dilution en tampon de pH alcalin. Un phénomène analogue se produit dans la gélose, comme nous l'avons déjà vu.

d) La réaction de Sia

Elle est positive dans 15 cas; dans 1 cas la réaction est peu significative: il se forme simplement un précipité floconneux qui diffuse dans toute la hauteur du tube; dans 2 cas elle est négative: il n'y a pas de précipité.

e) La courbe de SANDOR VARGUES

- Dans 15 cas, nous retrouvons l'aspect tout à fait caractéristique décrit dans les chapitres précédents.

- Dans trois cas, la courbe est non caractéristique de la maladie de Waldenström; elle se rapproche de l'aspect observé au cours des cirrhoses (de certains myélomes), : flèche simplement un peu plus haute, sans aspect diphasique, décalée du côté des pH basiques.

Il faut noter la corrélation très nette entre la réaction de Sia et la courbe de SANDOR VARGUES. Dans les 2 cas où

la réaction de Sia est négative, la courbe de SANDOR VARGUES a un aspect normal. Il s'agit donc de macro-pseudoglobulines.

f) L'étude immuno-électrophorétique

Nous avons constaté très souvent la présence d'un précipité important. Ce précipité peut se faire soit au niveau du godet de départ (12 fois sur 18), soit en arrière de ce godet (6 cas), soit enfin autour et en arrière (5 cas sur 18).

La ligne de précipitation de la bêta-2-macroglobuline est variable :

- 5 fois nous avons noté un aspect caractéristique à double courbure,
- dans 9 cas, outre un précipité en arrière du godet, nous avons noté une ligne de la bêta-2-macroglobuline décrivant une large courbure à concavité supérieure, et croisant la ligne des gamma-globulines. Cet aspect est lui aussi très évocateur.
- Par contre, dans 4 cas, la ligne de précipitation de la bêta-2-macroglobuline n'est pas à sa place habituelle, car elle décrit une simple courbure, qui entoure le godet de départ. Il a fallu utiliser les immunsérums épuisés en anticorps bêta-2-macroglobuline, pour permettre leur identification.

Sachant les relations qui unissent les globulines immunes, gamma, bêta-2-A et bêta-2-M globulines, nous avons voulu nous rendre compte des variations possibles des deux premières au cours de la maladie de Waldenström.

C'est ainsi que nous avons constaté que la bêta-2-A globuline est difficile à étudier, car son trait est souvent masqué par les bêta-2-M globulines et les gamma-globulines.

Le plus souvent, son aspect paraît normal, mais l'on note parfois une diminution et même une disparition du trait (3 cas). Une fois, a été constatée une augmentation de ce trait.

Le trait des gamma-globulines a toujours été normal. Nous n'avons pas retrouvé, même en utilisant les immunsérums anti-gammaglobulines, les anomalies signalées par BURTIN et coll. (5).

g) L'ultracentrifugation

Les sérums contiennent un fort pourcentage de constituants lourds. Le constituant lourd essentiel a une constante de sédimentation voisine de S_{20}^{17} ; son pourcentage varie de 10 à 56 % avec une moyenne de 35 %.

L'ultracentrifugation met en évidence la présence de plusieurs composés macromoléculaires. Dans un seul cas, il n'existe qu'un seul composé de constante de sédimentation $S_{20}^{16,5}$; 11 fois sur 18, on retrouve 2 constituants: l'un de constante de sédimentation voisine de S_{20}^{17} , l'autre S_{20}^{26} ; enfin dans 6 cas sur 18, on note la présence d'un 3ème constituant, ayant une constante de sédimentation supérieure à S_{20}^{30} .

Alors que la constante de sédimentation du composé essentiel est comprise entre $S_{20}^{16,5}$ et $S_{20}^{17,5}$, les autres sont beaucoup plus variables.

Dans tous les cas, le premier constituant est nettement prédominant quantitativement; le troisième n'existe qu'à l'état de traces.

Si l'on calcule la quantité de constituants lourds en valeur absolue pour les valeurs extrêmes, (cas où les pour-

centages de constituant lourd sont très élevés ou très bas, cas où la protidémie est inférieure à 80 g par litre). On note :

1er cas : 10 % de constituant lourd avec une protidémie à 79 g, ce qui donne en valeur absolue 8 g.

2ème cas: 56 % de constituant lourd avec une protidémie à 112 g/l, soit 62 g en valeur absolue.

3ème cas: protidémie à 73 g avec 29 % de constituant lourd, soit 21 g en valeur absolue.

h) Etude des macroglobulines isolées.

Elles ont été préparées selon la technique déjà décrite. Ces préparations sont étudiées par électrophorèse, immuno-électrophorèse, ultracentrifugation.

L'électrophorèse sur papier montre l'existence d'une seule tache, donc d'un seul constituant. La comparaison des électrophorèses de sérums de maladie de Waldenström, du surnageant, et du précipité montre que cette tache est présente dans le premier, disparaît dans le second, pour réapparaître dans le troisième.

L'étude immuno-électrophorétique a été faite dans 11 cas. Le trait de précipitation est analogue à celui retrouvé dans le sérum. C'est l'utilisation d'immunsérums épuisés en anticorps qui fait la preuve que ce trait est bien celui de la macromolécule. Le surnageant après précipitation des macroglobulines a été étudié dans six cas ; il montre une seule fois un très léger précipité en regard du godet, une ligne de précipitation de la bêta-2-macroglobuline très discrète trois fois, et absente dans les trois autres cas. Ce qui prouve simplement que la méthode de

préparation n'épure pas complètement le sérum des macromolécules.

L'ultracentrifugation permet à la fois d'authentifier la nature macromoléculaire de la préparation et de connaître son degré de pureté. Les constantes de sédimentation des constituants lourds, sont identiques à celles retrouvées dans les sérums. Leurs pourcentages varient de 70 à 90 %. Le constituant lourd qui prédomine quantitativement est, là encore, celui dont la constante de sédimentation est voisine de S_{20}^{17} .

Enfin, dans 2 cas, il s'agissait de macroglobulines gélifiantes. L'étude immuno-électrophorétique n'a pas montré d'anomalies autres que celles déjà constatées. L'ultracentrifugation faite à 37°C met en évidence deux constituants lourds de constante de sédimentation S_{37}^{25} et S_{37}^{39} avec des pourcentages respectifs de 21 et 51 % du constituant S_{37}^{25} . Si on tient compte de la différence de viscosité du tampon entre 20°C et 37°C, on retrouve pour le constituant essentiel la constante de sédimentation S_{20}^{17} . Cela signifie que la "curiosité" de macromolécule gélifiante est apparemment indépendante du poids moléculaire et du déterminant antigénique. Les préparations de macroglobulines sont ici parfaitement pures, comme le montre l'ultracentrifugation (100 % de constituants lourds).

L'étude de la diffusion des antigènes et des anticorps en milieu gélifié selon la technique d'OUCHTERLONY a été appliquée (26):

- aux sérums totaux
- aux précipités de macroglobulines
- à leurs surnageants.

Ces macroglobulines sont immunologiquement différentes des gammaglobulines normales. Le trait de précipitation des macroglobulines croise le trait de précipitation des gammaglobulines, et ne se raccorde avec aucun des autres traits du sérum normal.

L'étude par les immunsérums de lapin antimacroglobuline montre une identité totale des différentes macroglobulines entre elles.

En conclusion, l'analyse des résultats précédents, démontre que le choix des techniques utilisées, (dosage des protides totaux, électrophorèse sur papier, réaction de Sia, courbe d'insolubilité des euglobulines, immuno-électrophorèse) pour la détection pratique des hypermacroglobulinémies est légitime. Dans 15 observations sur 18, il y a une concordance telle des résultats, qu'elle permet le diagnostic biologique, avant le contrôle de l'ultracentrifugation. Dans 3 observations, une dissociation de ceux-ci n'autorise qu'une présomption.

C - Affections diverses comportant une augmentation importante de la macroglobuline.

La caractéristique majeure de la maladie de Waldenström étant par définition même l'augmentation de la macroglobuline béta-2, la tendance majeure était de rattacher à cette maladie toute augmentation considérable des constituants lourds décelés par ultracentrifugation, et identifiés immunologiquement comme béta-2-M. En réalité, il n'est pas douteux que des erreurs aient été commises par excès: certaines hyperbéta-2-macroglobulinémies très importantes sont manifestement secondaires, et certaines

d'entre elles doivent être nettement séparées de l'affection décrite par Waldenström. Ceci apparaît à la lumière de nombreuses observations.

a) Tel est le cas de l'observation de DREYFUS et coll. (15) qui nous paraît particulièrement intéressante. Nous l'étudierons en premier, car elle représente un des cas les plus typiques et les mieux étudiés :

Chez ce malade, en effet, tous les critères cliniques, hématologiques et biologiques de la macroglobulinémie de Waldenström sont réunis. L'ultracentrifugation montre 14 % de constituant lourd de constante de sédimentation $S_{20}^{17,4}$. A l'immuno-électrophorèse, on note une augmentation nette du trait de précipitation de la bêta-2-M. Le traitement de sa trypanosomiase par l'Arsebal fait disparaître tous les signes. L'évolution clinique et biologique sera tout à fait superposable à l'évolution de sa parasitose. Le syndrome clinique de Waldenström est donc ici secondaire à un processus parasitaire inflammatoire que traduit le syndrome biochimique.

Nous ne connaissons pas d'autres cas secondaires à une trypanosomiase, mais d'autres parasitoses ont pu être incriminées, le kala-azar, la toxoplasmose (64, 10).

b) CHARMOT et coll. (9) ont montré l'existence de l'association de splénomégalie avec macroglobulinémie. Il s'agit en général de sujets en bon état général chez lesquels on constate une splénomégalie isolée. C'est l'étude systématique du sérum qui permet de mettre en évidence une macroglobulinémie. Le taux des macroglobulines est parfois élevé là aussi : CHARMOT cite deux cas avec une macroglobuline à 24 % et 26 % (9).

c) De nombreuses observations faisant état de l'association d'une augmentation importante des constituants lourds du sérum et d'une affection maligne ont été notées. Il peut s'agir soit d'une affection intéressant le système hématopoiétique (leucose aigüe), soit de cancers viscéraux.

Une augmentation importante des macroglobulines a été notée principalement au cours de certaines leucoses lymphoïdes (LAURELL, 35), (JAHNKE, 33), mais elle semble rare SELIGMANN et coll. (57) étudient 100 sérums de malades atteints de leucose par immunoélectrophorèse. Ils ne trouvent qu'une seule fois une augmentation de la macroglobuline: il s'agit d'une leucose lymphoïde. L'ultracentrifugation n'a pas été faite.

Enfin, de nombreux cancers viscéraux ont été incriminés. Il semble en effet que l'association cancer viscéral et hypermacroglobulinémie ne soit pas une simple coïncidence. KAPPELER (34) a étudié les différents cas publiés dans la littérature d'une telle association. On retrouve essentiellement :

carcinose diffuse (53)

lymphosarcome (1)

sarcome (4)

OLMER (44) cite un cas de maladie de Waldenström avec cancer du foie, associé mais on peut se demander si dans son observation, le cancer primitif du foie n'existait pas in situ depuis plusieurs années.

On retrouverait environ 10 % des cancers au cours de la maladie de Waldenström.

d) Depuis plusieurs années, de nombreux auteurs (16) ont été frappés par un certain nombre d'analogies entre le myélome et la maladie de Waldenström. Il semble actuellement qu'il faut bien dissocier ces deux affections, et que les formes complètes et caractérisées des deux affections sont nettement différentes. Mais il est certain qu'il existe des maladies de Kahler véritables avec hypermacroglobulinémie (JAHNKE et SCHOLTAN, 33), LAURELL (35). L'observation de RAYNAUD et coll. (50) est très intéressante; malheureusement l'immuno-électrophorèse n'a pas été pratiquée. Ces observations sont cependant très rares. L'étude de 85 cas de maladie de Kahler de R. FAUVERT, L. HARTMANN, J. MALLARME et P. BOIVIN (17) n'a pas permis de mettre en évidence une hypermacroglobulinémie.

E T U D E C H I M I Q U E

De nombreux auteurs se sont attachés à l'étude chimique des macroglobulines de la maladie de Waldenström. Leurs études ont porté essentiellement sur :

- la composition en acides aminés
- la teneur en hydrates de carbone
- enfin la dissociation en composés de plus faible poids moléculaire.

1) Composition en acides aminés

Les données des auteurs semblent assez variables. PERNIS (47) souligne que la composition en acides aminés est peu différente de celle des gamma-globulines normales, à l'exception de la proline qui est fortement diminuée. MANDEMA et VAN DER SCHARF (39) insistent sur l'abaissement important de la proline. ISLIKER (31) enfin confirme cette notion.

FIERE (19) dans sa thèse, donne une étude des trois macroglobulines. Il note :

- une augmentation des acides aminés basiques : lysine et arginine,
- un taux normal des diacides,
- une augmentation du glyco-colle et de l'alanine,
- une diminution de la proline, mais moins importante que celle notée par MANDEMA
- un taux de méthionine légèrement élevé.

BISERTE (2) à propos d'un cas, note une augmentation de l'acide glutamique, de la sérine et de la leucine, un taux de proline normal.

Il a étudié des acides aminés NH_2 et COOH terminaux d'une macroglobuline; il trouve alanine NH_2 terminal et glycolle COOH terminal.

Mais selon PUTNAM (48) toutes les macroglobulines étudiées n'ont pas le même acide aminé N terminal.

2) La teneur en hydrates de carbone

Celle-ci est augmentée comme le montre la simple électrophorèse sur papier après coloration par l'acide périodique Schiff : le composé anormal est fortement P.A.S. positif.

SONNET et coll. (60), DI GUGLIELMO et coll. (23) retrouvent cette forte teneur en hydrates de carbone. LAURELL et coll. (35) étudie la teneur en hydrates de carbone des protéines sériques normales isolées de sérums de malades atteints de maladie de Kahler et de macroglobulinémie de Waldenström. Il retrouve un pourcentage beaucoup plus élevé dans les macroglobulinémies et pense que cette différence de composition chimique pourrait avoir une valeur diagnostique.

MULLER-EBERHARD et coll. (43) étudient la composition en hydrates de carbone des gamma-globulines de constante de sédimentation 7 S, des gamma-globulines lourdes de constante de sédimentation 19 S et des macroglobulines. Il retrouve la même composition en hydrates de carbone dans les macroglobulinémies pathologiques et dans les gamma-globulines 19 S. METAIS et coll. (40)

retrouvent cette grande richesse en polysaccharides; les macroglobulines contiennent 6 % de polysaccharides totaux dont 3,5% d'hexoses, 0,6 % d'acide sialique, 6 % d'hexosamines et 0,52 % de fucose.

ISLIKER (31), BISERTE (2) insistent sur la richesse en acide sialique 6 à 10 fois plus élevée que pour les gamma-globulines normales: 1,7 % contre 0,22 %.

3) Dissociation de la macroglobuline

L'urée et le chlorure de sodium, les variations de température sont sans action sur les macromolécules (40). Les liaisons maintenant la macromolécule auraient donc une énergie supérieure à l'énergie des liaisons électrostatiques. Les agents désaturants étudiés ont été la Pénicillamine, la cystéine, le mercapto-éthanol, qui ont une action sur les liaisons disulfurés, soit enfin un tampon acide. Selon DEUTSCH et MORTON (13) les macroglobulines peuvent être scindées par le mercapto-éthanol, et donnent des composés de constante de sédimentation 6 S. correspondant aux gamma-globulines normales. Après oxydation, ces composés se reconstituent en composés macromoléculaires, mais différents du composé initial. Si on bloque les groupes sulfhydryl, la réassociation ne peut se faire. La molécule de macroglobuline serait donc formée de plusieurs chaînes de gamma-globulines reliées entre elles par des ponts S-S.

PUTNAM (48) confirme ces résultats, mais fait quelques réserves sur leur interprétation; en particulier, le caractère immunochimique, la richesse en polysaccharides s'opposent à l'hypothèse d'une association de gamma-globulines.

ISLIKER observe que les macroglobulines normales contenues en petites quantités dans le sérum ont un comportement analogue vis-à-vis de ces agents de scission. Il étudie la modification de la viscosité lors de l'apparition des produits de scission. Ce phénomène s'accompagne d'une diminution nette de la viscosité. Après oxydation, la viscosité augmente et atteint une valeur plus élevée qu'initialement ce qui s'explique par la coupure réversible des liaisons disulfures et la formation de molécules moins asymétriques. METAIS et coll. (40) étudient l'action du marcanto-éthanol sur les macroglobulines en suivant le phénomène par ultra-centrifugation et diffusion de la lumière. Ils comparent le devenir d'une macroglobuline et d'une gammaglobuline traitée dans les mêmes conditions. Leurs résultats montrent une nette différence de comportement. Le produit dégradé serait un mélange de polypeptides de masse élevée constitué par des particules formées de chaînes enroulées en pelote lâche très différentes des gammaglobulines. Ils rejettent l'hypothèse selon laquelle les macroglobulines seraient un agrégat de gammaglobulines.

LEVINE (36), STEPHAN RITZMANN (52) étudient l'action in vivo de la Penicillamine et de la cystéine.

Selon RITZMANN, la Pénicillamine per os entraîne une diminution de la viscosité du sérum, une négativation du test de Sia. Il note en plus une amélioration du syndrome hémorragique, de la sensibilité aux infections.

LEVINE retrouve après administration de Penicillamine per os une diminution de la viscosité du sérum, mais très modérée

en même temps qu'une diminution du composé lourd à l'ultracentrifugation, et que la disparition du trait de précipitation par la méthode d'OUCHTERLIN.

Cependant, il ne constate aucune amélioration clinique chez les malades ainsi traités.

DOUGLAS REES et RESNER (51) étudient la dissociation de la macromolécule en tampon acide. Ils étudient l'action du tampon sur le sérum macroglobulinique et la gamma-globuline par l'ultracentrifugation. Ils notent une dissociation des composés de haut poids moléculaire en composés 7 S dans une solution tampon acétate de pH 4,2. Ces composés lourds réapparaissent si l'on remplace le tampon acétate par un tampon véronal. Les macroglobulines anormales seraient, pour ces auteurs des agrégats de gamma-globulines ou tout au plus des composés protéiques ayant une constante de sédimentation de S_{20}^{70} .

DISCUSSION DES RESULTATS

Au terme de cette étude, il apparaît que les macroglobulines sériques de mobilité bêta-2 sont diverses, si l'on considère leurs propriétés physico-chimiques :

- Certaines d'entre elles sont des macroglobulines gélifiantes; d'autres sont des cryomacroglobulines.
- Le plus souvent, il s'agit d'euglobulines, mais parfois de pseudoglobulines.
- Leur migration électrophorétique est variable.
- Leur composition chimique n'est pas toujours identique.

Mais ces différences ne se retrouvent pas par l'ultra-centrifugation et l'étude immunologique. En effet, l'analyse des poids moléculaires par l'ultra-centrifugation n'a pas permis de mettre en évidence de différence entre les macromolécules étudiées. De même, les techniques immunologiques n'ont pas pu séparer des variétés antigéniques. Ainsi, par ces méthodes, on ne peut pas distinguer actuellement la macromolécule de la maladie de Waldenström de celle symptomatique d'affections d'étiologie connue.

Des recherches plus approfondies, plus complexes, telles que la mesure des viscosités intrinsèques et la spectrophotométrie en ultra-violet permettront peut-être de dissocier ces macromolécules, et en particulier de les différencier des macromolécules du sérum normal.

C O N C L U S I O N

Les macromolécules sériques normales sont mises en évidence par la méthode d'ultracentrifugation analytique. Parmi ces macromolécules, des techniques physico-chimiques et immunologiques permettent de différencier au moins deux variétés suivant leurs mobilités électrophorétiques (alpha-2 ou bêta-2) et leurs déterminants antigéniques.

D'après cette classification, les variations de ces macromolécules sériques ont été étudiées dans un grand nombre d'affections.

L'augmentation des constituants lourds du sérum ayant une mobilité électrophorétique alpha-2 et un déterminant antigénique propre s'observe essentiellement au cours des syndromes néphrotiques; accessoirement, elle a pu être signalée au cours d'un cas d'agammaglobulinémie.

L'augmentation des constituants lourds du sérum ayant une mobilité électrophorétique bêta-2, et un autre déterminant antigénique, est constatée dans des affections plus nombreuses et plus variées. Dans l'état actuel de nos connaissances, nous croyons utile de distinguer des taux de macromolécules bêta-2 inférieurs à 10 %, et des taux supérieurs à 10 % de celui de la protidémie.

Dans le premier groupe ont été étudiés des cas d'hépatite, de cirrhose, de polyarthrite chronique évolutive, de sclérose en plaque, etc...

Dans le deuxième groupe figurent à la fois des affections bien définies que nous avons classées dans le cadre du "syndrome de Waldenström" répondant à certaines trypanosomiasés, splénomégaliés africaines, leucémies surtout lymphoïdes, myélomes, cancers ... et une affection d'étiologie inconnue : la "maladie de Waldenström".

Pour toutes ces affections l'augmentation des macromolécules sériques peut être une modalité réactionnelle de type inflammatoire à des agressions d'origines diverses. Pour le cas particulier de la maladie de Waldenström, il est très vraisemblable, que des modifications qualitatives moléculaires s'ajoutent aux modifications quantitatives déjà bien connues et très caractéristiques.

Sur un plan pratique de diagnostic biologique les augmentations modérées des macromolécules peuvent être mises en évidence par la seule technique immunoélectrophorétique. Les augmentations importantes sont décelées par un groupement de techniques : dosage des protides totaux réaction de Sia, courbe d'insolubilité des euglobulines de SANDOR VARGUES, électrophorèse différentielle sur papier, immunoélectrophorèse. Celles-ci permettent dans la quasi-totalité des cas d'affirmer l'existence d'un taux élevé de macromolécules avant le contrôle quantitatif indispensable de l'ultracentrifugation. Outre l'intérêt diagnostique, une telle pratique biologique offre l'avantage de sélectionner les sérums qui méritent d'être étudiés par l'ultracentrifugation analytique, technique longue, difficile, onéreuse.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur
de l'Académie de Paris,

J. SARRAILH

VU

Le Doyen de
La Faculté de Médecine,

L. BINET

VU

Le Président de
la Thèse,

R. FAUVERT

B I B L I O G R A P H I E

- (1) ABRAMS (A.), COHEN (P.P.), MEYER (O.O.)
The physical properties of a cryoglobulin obtained
from lymph nodes and serum of a case of lymphosarcoma.
J.Biol.Chem. 1949, 181-237.
- (2) BISERTE (G.), BURTIN (P.), MONTREUIL (J.), HOLLEMAN (J.)
DAUTREVAUX (M.)
Etude biologique d'un cas de macroglobulinémie au
cours d'un syndrome de Waldenström.
Lille Med. 1958-3-37.
- (3) BOLT (W.), BOLTE (A.)
Vergleichende ultracentrifugenuntersuchungen der
serumeiweiss körper bei herzinsuffizienz und pulmonalen
erkrankungen.
Med. Klin. 1957-52-729.
- (4) BRAUNSTEINER (H.), FALKNER (R.), NEUMATER (A.), PAKESCH (F.)
Makromolekular kryoglobulinämie.
Klin. Wochenschr. 1954-32-722.
- (5) BURTIN (P.), HARTMANN (L.), HEREMANS (J.), SCHEIDEGGER (J.J.)
WESTENDORF BOERMA (F.), WIEME (R.), WUNDERLY (C.), FAUVERT (R.)
GRABAR (P.)
Etudes immunochimiques et immunoélectrophorétiques des
macroglobulines.
Rev. Franç. Etud. Clin. & Biol. 1957-2-161.
- (6) CATTAN (R.), CARASSO (R.), VESIN (P.), BURTIN (P.)
Les cirrhoses avec hyperprotidémie d'étiologie incon-
nue, leurs rapports avec la dysprotéïnémie de Waldens-
tröm.
Rev.Int.Hépat. 1957-7-33.
- (7) CHARMOT (G.)
Intérêt de l'étude des macroglobulinémies en patholo-
gie tropicale.
Med. Trop. 1959-19-646.
- (8) CHARMOT (G.), ANDRE (L.J.)
Les cryoglobulinémies.
Rev.Franç.Etud.Clin.& Biol. 1959-4-1060.
- (9) CHARMOT (G.), DEMARCHI (J.), ORIO (J.), REYNAUD (R.),
VARGUES (R.)
Un nouvel aspect des splénomégalias en Afrique Noire,
le syndrome splénomégalie avec macroglobulinémie.
Presse Méd. 1959-67-II.

- (10) CLEVE (H.), SCHWICK (G.)
Immunoélectrophorétique serumanalyse bei der makro-
globulinämie Waldenström
Z.Naturforsch. 1957-12-375
- (11) CREYSSEL (R.), CHARUILLAT (L.), MOREL (P.), MATRAY (F.),
DE MENDE (S.), CROIZAT (P.)
Contribution à l'étude biochimique du myélome multiple
et des dysprotéinémies malignes.
Rev.Lyon.Med. 1956-5-129
- (12) CREYSSEL (R.), FINE (J.M.)
Applications de l'électrophorèse à travers gel d'amidon
à l'étude des anomalies sériques du myélome multiple
et de la macroglobulinémie.
Rev.Franç.Etud.Clin. & Biol. 1958-9-984.
- (13) DEUTSCH (H.F.), MORTON (J.I.)
Dissociation of human serum macroglobulins.
Science 1957-125-601.
- (14) DREMER (E.), TROMBLY (P.)
Chemical dissociation of the rheumatoid factor in
vitro et in vivo.
Chim.Res. 1960-8-16.
- (15) DREYFUS (B.), LAROCHE (B.), FRITEL (A.), NENNA (A.),
SCNEIDER (J.)
Trypanosomiasis responsable d'une maladie de Waldenström
Presse Med. 1960-68-590
- (16) DURET (R.L.)
La macroglobulinémie et ses rapports avec les myéloma-
toses.
Acta Clin.Belg. 1956-II-540.
- (17) FAUVERT (R.), BENHAMOU (J.P.), BOIVIN (P.), DARNIS (F.),
HARTMANN (L.)
Biologie des cirrhoses alcooliques.
XXXII^e Cong.Franç.Med. Lausanne 1959.
- (18) FAUVERT (R.), HARTMANN (L.), MALLARME (J.), BOIVIN (P.)
Renseignements fournis par l'étude quantitative et
qualitative des protéines sériques au cours de 85 cas
de maladie de Kahler.
Rev.Prat. 1959-16-1749.
- (19) FIERE (H.)
Contribution à l'étude de la macroglobulinémie de
Waldenström.
Thèse Méd.Lyon 1957.
- (20) FILLITTI-WURMSER (S.), HUGOU (M.P.), HARTMANN (L.)
Identification immunoélectrophorétique des constituants
lourds du sérum normal.
Rev.Franç.Etud.Clin. & Biol. 1958-3-1080.

- (21) FRANCK (J.C.), EYQUEM (A.), PODLIACHOUK (L.), JACQUELINE (F.)
Etude immunoélectrophorétique du facteur rhumatoïde.
Ann. Inst. Pasteur 1960-1-96.
- (22) GRABAR (P.), WILLIAMS (C.A.)
Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de
protéines.
Biochem. Biophys. Acta 1953-10-195.
- (23) DI GUGLIELMO (R.), ANTONINI (F.M.)
Contribution à la connaissance de la macroglobulinémie
de Waldenström.
Sang, 1955-26-249.
- (24) DI GUGLIELMO (R.), RUGGIERI (P.)
La malattia di Waldenström (reticulosi linfoide dis-
protidemica)
XIV° Congr. Soc. Ital. Emat. 1956
- (25) GUINAND (S.)
Etude physico-chimique d'une cryoglobuline.
J. Polymer. Science 1957-29-497.
- (26) HARTMANN (L.), BOIVIN (P.), FAUVERT (R.)
Macroglobulines et macroglobulinémies.
Exposés annuels de Biochimie Médicale. Masson éd.
Paris 1957.
- (27) HARTMANN (L.), FILLITTI-WURMSER (S.), ARDAILLOU (N.),
BOIVIN (P.)
Les macroglobulines sériques. Etude biologique
Soc. Hématol. A paraître Le Sang 1960
- (28) HARTMANN (L.), BURTIN (P.), GRABAR (P.), FAUVERT (R.)
L'analyse immunoélectrophorétique des sérums de mala-
des atteints d'affections hépatiques.
C.R. Séances Acad. Sc. 1956-243-1937
- (29) HARTMANN (L.), LAGRUE (G.), MORETTI (J.)
Confrontation du syndrome néphrotique et de la pro-
téinurie lordotique. Etudes physiques et immunologi-
ques des protéines sériques et urinaires.
Rev. Franç. Etud. Clin. & biol. 1958-10-1052.
- (30) HARTMANN (L.), TOILLIEZ (M.)
Microméthode d'étude en gélose de la réaction antigène
anticorps.
Rev. Franç. Etud. Clin. & Biol. 1957-2-197
- (31) ISLIHER (H.)
Zur chemie der makroglobuline.
Helvet. Med. Acta 1958-25-51

- (32) ISRAEL-ASSELIN (R.), BURTIN (P.), CHEBAT (J.)
Syndrome nouveau d'agammaglobulinémie associée à une
bêta-2 macroglobuline.
Soc.Méd. Hôp. Paris, Séance du 1-4-60
- (33) JAHNKE (K.), SCHOLTAN (W.)
Klinische ultrazentrifugen-studien
Z.Ges.Exp.Med. 1953-39-122.
- (34) KAPPELER (A.), KREBS (A.), RIVA (G.)
Klinik der makroglobulinämie Waldenström
Helv.Med.Acta 1958-25-54.
- (35) LAURELL (G.B.), LAURELL (M.D.), WALDENSTRÖM (M.D.)
Glycoproteins in serum from patients with myeloma,
macroglobulinemia and related conditions.
Am.J.Méd. 1957-22-24
- (36) LEVINE (M.A.), HAMMACK (W.J.), FROMMEYER (W.B.)
Treatment of macroglobulinemia with penicillamine.
Clin.Res. 1960-8-54.
- (37) MACKAY (I.R.), TAFT (L.T.), WOODS (E.F.)
Clinical features and pathogenesis of macroglobulinemia.
Brit.Med. J. 1957-I-561.
- (38) MALLARME (J.), HARTMANN (L.), BOIVIN (P.)
La macroglobulinémie de Waldenström.
Pathol. & Biol. 1957-6-1519.
- (39) MANDEMA (E.), VAN DER SCHAFF (P.C.), HUISMAN (H.H.J.)
Investigations on the amino-acid composition of a ma-
croglobulin and a cryoglobulin.
J.Lab.Clin.Med. 1955-45-261.
- (40) METAIS (P.), KOVACS-JUNG (A.M.), DAUNE (M.)
Etude en solution diluée des macroglobulines normales
et dégradées.
Clin.Chim.Acta, 1960-5-26.
- (41) MICHON (P.), STREIFF (F.)
Macroglobulinémie de Waldenström
Masson éd. Paris, 1959.
- (42) MORETTI (J.), BOUSSIER (G.), JAYLE (M.F.)
Réalisations techniques et premières applications de
l'électrophorèse sur gel d'amidon.
Bull.Soc.Chim.Biol. 1957-39-593.
- (43) MULLER-EBERHARD (H.J.), KUNKEL (H.G.)
Ultra-centrifugal characteristics and carbohydrate
content of macromolecular gamma globulins.
Clin.Chim.Acta 1959-4-252.

- (44) OLMER (J.), MONGIN (M.), MURATORE (R.)
Le retentissement hépatique de la macroglobulinémie de
Waldenström.
Presse Med. 1957-65-524
- (45) OUCHTERLONY (O.)
Antigen antibody reactions in gels.
Arkiv.Kem.Mineral.Geol. 1948-26 B-14
- (46) PEDERSEN (K.)
Ultracentrifugal studies on serum and serum fractions.
Almquist & Wiksell ed. Upsalla 1945.
- (47) PERNIS (B.), WUHRMAN (F.), WUNDERLY (C.)
Aminoacid composition of macroglobulins in four cases
of macroglobulinemia.
Acta Haematol. 1954-II-309.
- (48) PUTNAM (F.W.)
Abnormal human serum globulins. The non identity of
macro globulins.
Arch. Biochem. Biophys. 1959-79-67.
- (49) QUATTRIN (N.), DINI (E.), PICCOLI (P.)
On the differential diagnosis of the purpura with
hypergamma globulinemia or macroglobulinemia.
Acta.Med.Scand. 1956-156-25.
- (50) RAYNAUD (R.), BROCHIER (M.), GRIGUIER (P.), TADEI (R.)
Sur un cas de dysglobulinémie maligne hémorragipare
associant maladie de Kahler et macroglobulinémie.
Le Sang 1959-8-822.
- (51) REES (E.D.), RESNER (R.)
Dissociation of a human, serum macroglobulin in acid
buffer.
Clin. Chim. Acta. 1959-4-272
- (52) RITZMANN (S.E.), COLLEMAN (S.L.), LEVIN (W.C.)
The modifications of a macroglobulin by penicillin,
penicillamine, and cysteamine.
J.Lab.Clin.Med. 1959-6-938.
- (53) ROSE (B.), KOVACKS (L.), HANSON (S.), RICHTER (M.),
GORDON (J.), GYENES (L.), SEHON (A.H.)
Macroglobulinemia: a study of the serum proteins in
4 cases.
Trans.Ass.Amer.Phys. 1956-69-139.
- (54) ROUBIER
Contribution à l'étude anatomique et biologique du
foie dans le paludisme d'inoculation.
Thèse Méd. Paris 1958.

- (55) SCHEIDEGGER (J.J.)
Une microméthode de l'immunoélectrophorèse.
Internat.Arch.Allergy, 1955-7-103.
- (56) SCHULTZE (H.)
Anwendung physikalisch-chemischer methoden zur charac-
terisierung der plasmaproteine.
Ztschr.Elektrochemie 1956-60-262.
- (57) SELIGMANN (M.), ALAIS (L.), BERNARD (J.)
Analyse immunoélectrophorétique du sérum de 100 malades
atteints de leucoses.
Rev.Franç.Etud.Clin.Biol. 1959-4-901.
- (58) SIA (R.H.P.)
A simple method for estimating quantitative differences
in the globulin precipitation test in kala-azar.
China Med.J. (Shangai) 1924-38-35.
- (59) SIGUIER (F.), BETOURNE (C.), LEVY (R.), HARTMANN (L.),
GUEDON (J.), ROBEL (P.)
Les agammaglobulinémies dites acquises de l'adulte avec
splénomégalie.
Sem.Hôp.Paris 1958-13-3.
- (60) SONNET (J.), LOUIS (L.), HEREMANS (J.)
Les hydrates de carbone des paraprotéines sériques.
Acta Haematol. 1955-14-193.
- (61) STEEL (A.E.)
Physicochemical studies on four macroglobulins.
Clin.Chim.Acta 1959-4-420.
- (62) SVARTZ (N.)
Macroglobulins in thumatoid arthritis
Acta Med.Scand. 1957-158-163.
- (63) VARGUES (R.)
La fiche réticulo-endothéliale de Sandor
Ann.Inst.Pasteur 1953-84-466.
- (64) WALDENSTROM (J.)
Abnormal proteins in myeloma
Advanc.Intern.Med. 1952-5-398.
- (65) WALDENSTROM (J.)
Macroglobulinemie.
Triangle 1959-3-264.
- (66) WALDENSTROM (J.)
Incipient myelomatosis or essential hyperglobulinemia
with fibrinogenopenia-a new sybdrom ?
Acta Med.Scand. 1944-117-216.
-

